

**Untersuchungen zur Bedeutung des
Histamins beim Wirkungsablauf
hyaluronidasehemmender
Substanzen**

Erich Fuchs

=

1961

**Untersuchungen zur Bedeutung des
Histamins beim Wirkungsablauf
hyaluronidasehemmender
Substanzen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Erich Fuchs
aus München

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. W. SEITZ
Dekan:	Professor Dr. Dr. H. EYER

Tag der mündlichen Prüfung: 20.6.1961



INHALTSVERZEICHNIS

Problematik	5
Eigene Versuche	8
Methodik	8
Versuchsreihen	9
Berechnung der prozentualen Hemmung	12
Statistische Auswertung	12
Diskussion	28
Zusammenfassung	29
Literaturverzeichnis	30

Am Beispiel der Salicylate 1, 2), des Phenylbutazons 3), des Chloräthylbenzmethoxazons 4), der Glucokortikoide 5) und der Moorbäder 6-9), haben MATHIES und Mitarbeiter 1-12) den Wirkungsmechanismus hyaluronidasehemmender Substanzen aufzuklären versucht. Mit Hilfe der auch in der vorgelegten Arbeit angewandten, auf dem Spreading-Effekt beruhenden Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel-Methode konnten sie im Tierversuch an männlichen weissen Ratten zeigen, dass die hyaluronidasehemmende Wirkung bei adrenaletomierten Tieren ausbleibt. Dieses Versuchsergebnis beweist die Notwendigkeit der Nebenniere für das Zustandekommen einer Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität in vivo. Auffallend auch in diesen Versuchsergebnissen war die Tatsache, dass beispielsweise auch Prednisolon als Nebennierenrindenhormonderivat bei seiner hyaluronidasehemmenden Wirkung der Anwesenheit der Nebenniere bedurfte. Mit diesem Versuchsergebnis wurden bereits gelegentlich geäusserte Ansichten, dass antirheumatisch wirksame Substanzen über eine Nebennierenrindenaktivierung wirksam sind, zumindest für den hyaluronidasehemmenden Effekt in Frage gestellt. Weiter haben DOMENJOZ 13), MATHIES 8) und JUNG 14) gezeigt, dass der Ascorbinsäuredepletionseffekt der Nebenniere nach hyaluronidasehemmenden Substanzen mit Ausnahme der Nebennierenrindenhormone bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt. Der Ascorbinsäuredepletionseffekt stellt nach SAYERS und SAYERS 15, 16) einen Beweis für die Aktivierung der Nebennierenrinde dar. Demnach wird durch die geprüften hyaluronidasehemmenden Stoffe tatsächlich die Nebennierenrinde bei intakten Ratten stimuliert. Nun haben aber MATHIES und Mitarbeiter 1-12) zeigen können, dass bei hypophysektomierten Tieren trotz Ausbleibens der Ascorbinsäuredepletion die hyaluronidasehemmende Wirkung erhalten ist. Die Stimulierung der Nebennierenrinde kann damit nicht als Voraussetzung für die Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität angesehen werden. Wenn andererseits die Anwesenheit der Nebenniere erforderlich ist, blieb anzunehmen, dass der hyaluronidasehemmende Effekt entsprechend wirksamer Substanzen eine Nebennierenmarkfunktion mit Ausschüttung von Katecholaminen darstellt. Diese Annahme wird durch die Untersuchungen von MATHIES und Mitarbeiter 17, 18) bestätigt, nach denen die Nebennierenkatecholamine Adrenalin und Noradrenalin nicht nur bei intakten, sondern auch bei adrenaletomierten Ratten eine hyaluronidasehemmende Wirkung gleicher Grössenordnung hervorrufen. Das Ausmass der hyaluronidasehemmenden Wirkung ist bei beiden Katecholaminen in gleicher Dosierung annähernd gleich. Man hat vielleicht den Eindruck, dass der hyaluronidasehemmende Effekt des Noradrenalins unbedeutend stärker ist als der des Adrenalins. Auffällig ist jedoch, dass geringere Dosen zeitlich eher das Maximum ihres hyaluronidasehemmenden Effektes erzielen als grössere Dosierungen. Bei einer intravenösen Gabe von 1 μ g Adrenalin bzw. Noradrenalin pro 100 g Tier wird das Maximum der Hemmung etwa 15 Minuten p.i. erreicht, während 6 μ g Adrenalin bzw. Noradrenalin pro 100 g Tier ihr Maximum der hyaluronidasehemmenden Wirkung 45 Minuten p.i. erkennen lassen. 0,5 μ g pro 100 g

Tier führten dagegen nicht mehr zu einer statistisch fassbaren Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität. Etwa 1 μ g Adrenalin bzw. Noradrenalin muss demnach als Mindestdosis bei intravenösen Gaben angesehen werden, die eine deutliche Hyaluronidasehemmung erzielen lässt. In beiden Versuchsreihen, sowohl mit 1 μ g als auch mit 6 μ g Adrenalin bzw. Noradrenalin pro 100 g Tier fiel auf, dass die Hyaluronidasehemmung erst nach Abklingen der primären, an der Pupillenweite registrierbaren Katecholaminwirkung auftritt. Es war nach diesen Versuchsergebnissen wahrscheinlich, dass erst nach Abklingen der Katecholaminwirkung ein hyaluronidasehemmender Effekt deutlich wird. Hierfür spricht auch die Tatsache, dass höhere Katecholamindosen später zu einer Hyaluronidasehemmung führen, da grössere Mengen naturgemäss später durch die Monoaminoxidase abgebaut und damit unwirksam werden. Eine andere Möglichkeit der Deutung wäre die Wirksamkeit bezüglich der Hyaluronidasehemmung von Katecholaminabbauprodukten. Um die hier vorliegenden Verhältnisse zu klären, wurden von SCHLIERF 19) Versuche mit Adrenalindauerinfusionen durchgeführt. Es zeigte sich, dass bei adrenaletomierten Ratten auch während einer zweistündigen Adrenalininfusion keine Hyaluronidasehemmung sichtbar wird. Diese tritt vielmehr erst in einem gewissen Zeitabstand nach Absetzen der Infusion in Erscheinung. Damit ist die Anwesenheit von Katecholaminabbauprodukten als auslösendes Moment für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung auszuschliessen, denn diese stehen während einer zweistündigen Adrenalininfusion in ausreichender Menge zur Verfügung. Sowohl durch einmalige Katecholamininjektion als auch durch Adrenalininfusion über einen längeren Zeitraum wird der Katecholaminblutspiegel über kürzere oder längere Zeit über sein Normalniveau erhöht, und es hat den Anschein, als ob die Rückkehr auf den Normalgehalt die Hyaluronidasehemmung auslöst. Um diese Feststellung weiter zu erhärten, wurden während der genannten Adrenalininfusion "Spitzen" durch zusätzliche intravenöse Injektionen gesetzt. Hierbei konnte eine Hyaluronidasehemmung bereits während der Adrenalininfusionen im Anschluss an die zusätzliche Adrenalininjektion festgestellt werden. Damit schien gesichert, dass der Abfall des Katecholaminblutspiegels auf ein niedrigeres Niveau die Hyaluronidasehemmung auslöst, wobei die absolute Höhe des Blutspiegels keine Rolle zu spielen scheint. Auch durch von ECKELMANN 20) und MECKEL 21) mit Reserpingaben durchgeführte Versuche wurde diese Ansicht bestätigt. Sie konnten zeigen, dass auch der Abfall des Katecholaminspiegels unter den Normalwert eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität erkennen lässt. Auffallend war, dass Adrenalindauerinfusionen im Gegensatz zu adrenaletomierten Tieren bei intakten Ratten bereits während der Infusion eine Hyaluronidasehemmung erzielen 19). Für dieses Phänomen mussten zusätzliche Katecholaminausschüttungen aus dem Nebennierenmark verantwortlich gemacht werden. Die Annahme, dass diese durch eine Nebennierenrindenhormonfreisetzung aus der Nebennierenrinde durch die Adrenalinwirkung auf dem Wege über die Hypophyse zu Wege gebracht wird, wurde durch die Versuche von SCHLIERF 19) widerlegt, da Adrenalindauerinfusionen bei hypophysektomierten Tieren ebenfalls während der Infusion eine Hyaluronidase-

hemmung erkennen liessen. Demzufolge wurde eine nebennierenmarkmobilisierende Wirkung des Adrenalins diskutiert, die entgegen anderen Autoren auch von MALORNI 22) und FORST 23) angenommen wird. Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebennieren von KAINZ 24) ergaben einen deutlichen Anstieg über die Normalwerte nach einmaliger Gabe von Adrenalin mit anschliessender Rückkehr auf den Ausgangswert. Da MATHIES 12) sowie SCHUB 25) das gleiche Verhalten auch nach Phenylbutazon und Östronsulfat, bei denen auch durch andere Untersuchungsmethoden eine katecholaminausschüttende Wirkung sichergestellt wurde, feststellen konnten, kann geschlossen werden, dass nach Adrenalin eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark erfolgt.

Die genannten Ergebnisse lassen vermuten, dass durch das Absinken des Katecholaminblutspiegels auf niedrigere Werte weitere Reaktionen im Organismus in Gang gesetzt werden, die letztlich die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bedingen. Eine Beteiligung an diesem Reaktionsablauf ist für solche körpereigene Stoffe zu diskutieren, deren hyaluronidasehemmende Wirkung in vivo bzw. in vitro bereits bekannt ist.

Eine Beteiligung des Heparins an diesem Wirkungsablauf wurde von MATHIES 11), MAXEIN 26), ZIWARL 27) und HIEKMANN 28) bereits diskutiert. Auch vom Histamin ist eine hyaluronidasehemmende Wirkung in vitro von GLICK und KAUFMANN 29) beschrieben worden. Dagegen lehnen PANTLITSCHKO und KAISER 30) auf Grund ihrer Versuche eine Hyaluronidasehemmung des Histamins in vitro ab. KONTIS 31) hat eine Hemmung der Hyaluronidase durch Histamin in geringen Dosen in vivo eindeutig nachweisen können. Diese hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins war durch ein Antihistaminikum (Avil) aufgehoben. Es wurde sogar eine fassbare Steigerung der Hyaluronidaseaktivität bei gleichzeitiger Gabe von Avil und Histamin gefunden. Als Erklärung für diese Feststellung wird das in der Rattenhaut reichlich vorhandene Histamin herangezogen. Auch die hyaluronidasehemmende Wirkung des Natriumsalicylats, des Phenylbutazons, des Prednisolons und der Moorbäder wird durch das Antihistaminikum Avil blockiert (AHLHEIM 32). Nach HRISTOFORIS 33) hebt Avil auch die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins auf. Die in vivo hyaluronidasehemmende Histaminmenge ist ausserordentlich gering und liegt nach HÖLAND 34) bei 0,05-0,1 g pro 100 g Tier. Da nach STAUB 35-37) Adrenalin zu einer Histaminfreisetzung führt, erscheint es möglich, dass dieser Wirkungsmechanismus beim Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung im Anschluss an eine Nebennierenmarkaktivität vorliegt.

Bei der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Adrenalins hatte SCHLIERF 19) gefunden, dass erst nach Absetzen einer gleichmässigen Adrenalinzufuhr bei adrenaletomierten Tieren der hyaluronidasehemmende Effekt eintritt. Nur bei intakten Ratten tritt eine Hyaluronidasehemmung in Folge zusätzlicher Adrenalin ausschüttung aus dem Nebennierenmark schon während der Adrenalininfusion ein.

Es sollten in der vorgelegten Arbeit bei gleicher Versuchsanordnung die Verhältnisse untersucht werden, die bei langdauernder experimenteller Histaminzufuhr vorliegen.

METHODIK

Es wurden männliche weisse Ratten im Gewicht von 135 bis 245 g für die Versuche verwendet. Die Adrenalektomie wurde in Äthernarkose durchgeführt. Die adrenalektomierten Tiere wurden mit Hafermark und Zucker kohlehydratreich ernährt und erhielten zur Aufrechterhaltung des Ionenhaushaltes physiologische Kochsalz-Lösung als Trinkflüssigkeit. Die Ratten wurden 48 Stunden nach der Adrenalektomie in Versuch genommen, da nach Untersuchungen des Thorm-Testes und nebennierenbedingten Grundumsatzes durch KARG 38), sowie nach histologischen Versuchsergebnissen von BACHMANN 39) und CANALIS 40) im Verlauf von 2 Tagen eine Regeneration funktionstüchtigen Nebennierengewebes kaum anzunehmen ist. Die Hyaluronidaseaktivität wurde an der Ausbreitung einer Farbstoff- bzw. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor und zu verschiedenen Zeiten während und nach einer Dauerinjektion mit Histamin (Imido) ermittelt. Hierzu wurde die Bauchhaut 48 Stunden vor dem Versuch mit Pilca enthaart. Die reine Farbstoff-Quaddel wurde mit 0,1 ccm einer 0,6%igen Evansblau-Lösung streng intracutan gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung wurden in 2 ccm der oben angegebenen 0,6%igen Evansblau-Lösung 150 IE Hyaluronidase gelöst, so dass bei der intracutanen Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Ausgewertet wurde die 10 Minuten nach Injektion erreichte Ausbreitung der Farbstoff-Flecken, da nach MADINAVEITIA 41) in dieser Zeit das Spreading ein reiner Hyaluronidase-Effekt ist. Das Ausbreitungsfeld wurde durch Übertragung der Konturen auf Zelluloidstreifen und anschliessende planimetrische Ausmessung bestimmt. Naturgemäss zeigt die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine weitaus raschere Ausbreitung, als die reine Farbstoff-Quaddel. Dagegen weist die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine gewisse Hemmung der Ausbreitung auf, wenn eine hyaluronidasehemmende Substanz appliziert wird. Die Versuche wurden in Narkose mit 30 mg Evipan-Natrium pro 100 g Tier durchgeführt. Bei mehrstündiger Versuchsdauer erwies sich die Kombination von 20 mg Evipan-Natrium und 8,8 mg Luminal-Natrium pro 100 g Tier als zweckmässig. Ein Einfluss von Barbituraten auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht nach WILHELM 42) nicht, ebenso wenig nach Versuchen von MATHIES 43).

Histamin wurde i. v. in die freigelegte Femoralvene injiziert und zwar durch eine mittels eines dünnen Schlauches an eine fixierte Spritze angeschlossene Kanüle. Dadurch war eine Dauerinjektion auch über mehrere Stunden technisch gut möglich. Die Histamin-Anfangsdosis betrug zunächst 1,5 μ und wurde im Verlaufe einer Minute injiziert (diese Applikation wurde von den Ratten noch gut vertragen). Dann wurde weiter 1 μ Histamin pro Minute verabfolgt. Die Injektionsflüssigkeit enthielt in 0,05 ml physiologischer Kochsalz-Lösung 1 μ Histamin. Die Bestimmung der Hyaluronidasehemmung erfolgte zu den Zeitpunkten 15 Minuten, 45 Minuten, 80 Minuten und 120 Minuten nach Beginn der Injektion sowie nach den Zeitpunkten 45 Minuten, 90 Minuten und 120 Minuten nach Beendigung der Injektion. Diese Versuchsreihen wurden sowohl an intakten als auch an adrena-

lektomierten Ratten durchgeführt.

VERSUCHSREIHEN

I. NORMALTIERE

Die Histamin-Anfangsdosis betrug 1,5 γ (im Verlauf einer Minute injiziert), anschliessend wurden über 120 Minuten 1 γ pro Minute gegeben. Die Hyaluronidasehemmung wurde 15, 45, 80 und 120 Minuten nach Beginn der Injektion bestimmt, sowie 45, 90 und 120 Minuten nach Beendigung der Dauerinjektion.

Versuchsreihe 1

a) Hyaluronidasehemmung 15 und 45 Minuten nach Beginn der Histamin-Dauerinjektion:

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyalase-Quaddel		
		vor	15' nach	45'	vor	15' nach	45' nach Beginn
		mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
I	175	125	110	118	216	180	185
II	185	145	140	135	198	170	182
III	165	120	120	121	215	170	178
IV	190	122	120	135	208	176	195
V	190	138	131	125	235	185	210

TABELLE 1

b) Hyaluronidasehemmung 80 und 120 Minuten nach Beginn der Histamin-Dauerinjektion:

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyalase-Quaddel		
		vor	80' nach	120'	vor	80' nach	120' nach Beginn
		mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
I	195	130	120	124	215	150	165
II	225	140	120	115	222	174	175
III	195	140	135	125	235	168	178
IV	155	130	130	130	218	178	175

TABELLE 2

Versuchsreihe 2

a) Hyaluronidasehemmung 45 Minuten nach Beendigung der Histamin-Dauerinjektion von 120 Minuten:

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hyalase-Quaddel	
		vor	45' nach	vor	45' nach Beendigung
		mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
I	185	131	130	235	225
II	185	141	145	221	195
III	155	120	128	200	185
IV	155	150	110	194	190
V	170	140	130	240	198

TABELLE 3

b) Hyaluronidasehemmung 90 und 120 Minuten nach Beendigung der Histamin-Dauerinjektion von 120 Minuten:

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyalase-Quaddel		
		vor	90' nach	120' nach	vor	90' nach	120' nach Beendigung
		mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
I	195	120	120	120	240	216	221
II	185	120	112	112	243	210	228
III	180	131	110	110	190	178	180
IV	185	120	120	110	240	211	215
V	245	121	126	112	240	215	220

TABELLE 4

II. ADRENALEKTOMIERTE TIERE

Die Histamin-Anfangsdosis betrug ebenfalls wieder 1,5 μ (im Verlauf einer Minute injiziert), anschliessend über 120 Minuten 1 μ pro Minute. Die Hyaluronidasehemmung wurde 15, 45, 80 und 120 Minuten nach Beginn der Injektion und 45, 90 und 120 Minuten nach Beendigung der Dauerinjektion bestimmt.

Versuchsreihe 3

a) Hyaluronidasehemmung 15 und 45 Minuten nach Beginn der Histamin-Dauerinjektion:

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy ⁻ ase-Quaddel		
		vor	15'	45'	vor	15'	45'
		mm ²	mm ² nach	mm ²	mm ²	mm ² nach Beginn	mm ²
I	160	125	140	131	232	222	219
II	185	150	150	139	220	203	205
III	175	155	150	129	215	195	210
IV	155	138	140	145	207	190	203
V	145	140	140	142	208	200	201

TABELLE 5

b) Hyaluronidasehemmung 80 und 120 Minuten nach Beginn der Histamin-Dauerinjektion:

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hy ⁻ ase-Quaddel		
		vor	80'	120'	vor	80'	120'
		mm ²	mm ² nach	mm ²	mm ²	mm ² nach Beginn	mm ²
I	135	150	132	134	240	215	218
II	215	150	151	140	211	191	196
III	155	150	145	135	220	198	210
IV	170	134	148	118	210	188	192

TABELLE 6

Versuchsreihe 4

a) Hyaluronidasehemmung 45 Minuten nach Beendigung der Histamin-Dauerinjektion von 120 Minuten:

TABELLE 7

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff-Hy ⁻ ase-Quaddel	
		vor	45'	vor	45'
		mm ²	mm ² nach	mm ²	mm ² nach Beendigung
I	165	148	124	215	182
II	135	150	150	220	185
III	180	141	120	227	186
IV	160	118	140	232	170
V	160	165	165	209	188

b) Hyaluronidasehemmung 90 und 120 Minuten nach Beendigung der Histamin-Dauerinjektion von 120 Minuten:

Tier	Gewicht in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel		
		vor	90'	120'	vor	90'	120'
		mm ²	mm ² nach	mm ²	mm ²	mm ² nach	mm ² Beendigung
I	220	140	145	135	260	242	238
II	170	130	140	128	261	240	238
III	175	136	139	150	250	238	240
IV	195	121	120	112	228	215	210
V	145	122	120	120	240	220	223

TABELLE 8

BERECHNUNG DER PROZENTUALEN HEMMUNG

Die Berechnung der Hyaluronidasehemmung geschah in der Weise, dass die Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel vor dem Versuch mit einer 100%igen Hemmung, die der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor dem Versuch mit einer 0%igen Hemmung gleichgesetzt wurde. Auf den hierdurch festgelegten Masstab wurde die Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zu verschiedenen Zeiten nach Einwirkung der betreffenden Substanz bezogen.

Die sich ergebende Formel:

$$H = \frac{(\text{FHQ vor} - \text{FHQ nach}) \times 100}{(\text{FHQ vor} - F \text{ vor})}$$

H = Hyaluronidasehemmung

FHQ = Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

F = Farbstoff-Quaddel

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

1. Statistisches Modell und Methodik.

Primäre Aufgabe einer statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist es, die Variabilität der beobachteten Werte in denjenigen Anteil zu zerlegen, der durch systematische Faktoren bedingt ist und in einem anderen Anteil, der durch zufällige bzw. experimentell nicht genau kontrollierbare Einflüsse bedingt ist. Im Falle der vorliegenden Versuche haben wir prinzipiell mit zwei systematischen Faktoren zu rechnen, nämlich einmal dem Einfluss des jeweiligen Versuchstieres und zum anderen dem Einfluss der jeweiligen Versuchszeit, zu der die Hyaluronidase-Aktivität bestimmt wurde. Die Erfahrung bei der Auswertung früherer Versu-

che, insbesondere bei der Auswertung systematischer Versuche, hat gezeigt, dass man diesen systematischen Einflüssen am besten gerecht wird, wenn man der statistischen Auswertung ein lineares Modell zugrunde legt. Hierbei wird angenommen, dass ein Messwert

$$x(V;t),$$

der an dem Versuchstier V zu dem Zeitpunkt t bestimmt wurde, sich in der nachstehenden Form darstellen lässt

$$x(V;t) = a_V + b_t + \epsilon.$$

In diesem Ausdruck sollen a_V bzw. b_t Konstanten bedeuten, die nur von dem jeweiligen Versuchstier bzw. nur von der jeweiligen Versuchszeit abhängen und voneinander unabhängig sind. Diese beiden Konstanten sollen den systematischen Einfluss des jeweiligen Versuchstieres bzw. der jeweiligen Versuchszeit auf den Messwert zum Ausdruck bringen. Die Grösse ϵ dagegen ist der Ausdruck desjenigen Anteils der Variabilität der Messwerte, der durch zufällige Einflüsse bedingt wird und den wir weiterhin mit Versuchs-Variabilität bezeichnen. Das Modell ist nur dann vollständig, wenn man über diese Grösse ϵ noch gewisse Voraussetzungen trifft. Diese lauten dahingehend, dass ϵ eine normalverteilte Zufallsvariable ist mit dem Erwartungswert 0 und einer Varianz σ^2 , die nur von der Versuchsanordnung nicht jedoch von dem jeweiligen Versuchstier bzw. von der jeweiligen Versuchszeit abhängt.

Aufgabe der statistischen Auswertung ist es, nach Festlegung des statistischen Modells, optimale Schätzungen für die Konstanten die in das Modell eingehen und für die Versuchs-Variabilität zu ermitteln. Dies geschieht im vorliegenden Falle nach der "Methode der kleinsten Quadrate", wobei die Versuchs-Variabilität mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geschätzt wird. In den Varianz-Analysen ergibt sich diese Schätzung als Rest-Varianz.

Hinsichtlich der Schätzung der Konstanten sei hier nur erwähnt, in welcher Weise die Konstanten b_t , die zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches gehören, geschätzt werden. Es bedeutet hierzu $\bar{x}(t)$ das arithmetische Mittel aus allen Messwerten, die zu dem Zeitpunkt t an sämtlichen Versuchstieren einer Versuchsreihe beobachtet wurden. Bei passender Normierung der individuellen Konstanten a_V der einzelnen Versuchstiere, ist dann $\bar{x}(t)$ eine optimale Schätzung im Sinne der "Methode der kleinsten Quadrate" für die zum Zeitpunkt t gehörige Konstante b_t . Innerhalb einer Versuchsreihe liegt eine Veränderung der Hyaluronidase-Aktivität nur dann vor, wenn die zu verschiedenen Zeiten gehörigen Konstanten b_t sich voneinander unterscheiden. Zur statistischen Prüfung der Frage, ob in einer Versuchsreihe eine solche Veränderung der Hyaluronidase-Aktivität vorliegt war daher zu prüfen, ob die beobachteten Messwerte mit der Hypothese verträglich sind, dass die zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches gehörigen Konstanten b_t untereinander gleich sind. Trifft dies nicht zu, so kann als statistisch gesichert gelten, dass während der Versuchsreihe eine Änderung in der Hyaluronidase-Aktivität auftritt. Bei der vorliegenden Versuchsanordnung wird diese Hypothese am zweckmäs-

sigsten mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geprüft, wobei die "Varianz zwischen den Zeiten" die sich hierbei ergibt, ein Mass für die Abweichung des experimentell beobachteten Sachverhaltes von der obigen Hypothese darstellt. Ist diese Varianz-Komponente statistisch gesichert grösser als die Schätzung der Versuchs-Variabilität, die sogenannte Rest-Varianz, so ist die Prüf-Hypothese zu verwerfen, d.h., es liegt eine statistisch gesicherte Veränderung in der Aktivität der Hyaluronidase vor.

Der anderen, in der Varianz-Analyse auftretenden Varianz-Komponente "Varianz zwischen den Tieren" kommt unmittelbar für die vorliegende Fragestellung keine Bedeutung zu. Sie drückt lediglich aus, in welcher Weise sich das "Reaktionsniveau" der einzelnen Versuchstiere voneinander unterscheidet. Ist sie statistisch wesentlich grösser als die Versuchs-Variabilität, so bedeutet dies, dass zu verschiedenen Versuchstieren verschiedene Konstanten a_V gehören. Auf Grund des linearen Modells kann die zu einem Versuchstier V gehörige Konstante a_V als das zu diesem Tier gehörige individuelle "Reaktionsniveau" gedeutet werden.

Liefert die Varianz-Analyse einen statistisch gesicherten Hinweis dafür, dass während einer Versuchsreihe eine Veränderung in der Hyaluronidase-Aktivität eingetreten ist, so ist noch zu prüfen, zu welchem Zeitpunkt des Versuches gegenüber dem Ausgangswert diese Veränderung eingetreten ist und in welcher Richtung sie verlaufen ist, d.h., ob eine Vergrösserung oder eine Verminderung der Hyaluronidase-Aktivität stattgefunden hat. Die Richtung der Veränderung kann dadurch ermittelt werden, dass man die Differenz zwischen der zum Zeitpunkt t gehörigen Konstanten b_t und der Konstanten b_o berechnet, die zum Ausgangswert gehört. Selbstverständlich lassen sich aus den Versuchen nur Schätzwerte für diese Differenz ermitteln. Diese Schätzwerte stellen sich in Form der Mittelwertsdifferenzen

$$\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$$

dar, wobei $\bar{x}(0)$ derjenige Mittelwert ist, der zu dem unbeeinflussten Ausgangswert gehört. Eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität zum Zeitpunkt t des Versuches liegt nur dann vor, wenn die zugehörige Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ einen negativen Wert besitzt. Eine statistisch gesicherte Veränderung der Hyaluronidase-Aktivität zum Zeitpunkt t liegt nur dann vor, wenn die zugehörige Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ gesichert von 0 verschieden ist. Die Varianz-Analyse sagt nur darüber etwas aus, ob für mindestens einen Zeitpunkt eine gesicherte Mittelwertsdifferenz vorliegt, sie macht jedoch keine Aussage darüber, für welchen speziellen Zeitpunkt dies der Fall ist. Um auch diese Frage zu klären, muss im Anschluss an die Varianz-Analyse ein weiterer Test durchgeführt werden, wobei wir uns für den von Duncan entwickelten Test zur simultanen Prüfung mehrerer Mittelwertsdifferenzen im Anschluss an eine Varianz-Analyse entschieden.

Da aus Gründen der experimentellen Technik bei den vorliegenden Versuchen keine Doppelbestimmungen am gleichen Versuchstier zur gleichen Versuchszeit durchgeführt werden konnten (auf Grund der beschränkten Grösse der Bauchhaut der Versuchstiere) kann die Richtigkeit des zugrunde gelegten statistischen Modells

nicht unmittelbar mit Hilfe der vorliegenden Versuche geprüft werden. Dabei ist unter Richtigkeit eine angemessene Übereinstimmung zwischen den Werten, die auf Grund des statistischen Modells erwartet werden müssten und denjenigen Werten, die tatsächlich beobachtet worden sind, zu verstehen. Immerhin gibt es eine Möglichkeit zumindestens abzuschätzen, ob das gewählte Modell vernünftig ist. Hierzu gingen wir folgendermassen vor:

Die zum Zeitpunkt t einer Versuchsreihe an sämtlichen Versuchstieren gemessenen Werte weisen eine bestimmte Variabilität auf, als deren Mass wir die empirische Varianz s_t^2 dieser Messwerte ansahen. Wenn das gewählte statistische Modell den realen Sachverhalt in angemessener Weise wiedergibt, so muss erwartet werden, dass die zu verschiedenen Zeiten gehörigen empirischen Varianzen s_t^2 alles Schätzwerte der gleichen übergeordneten Varianz sind, d. h., dass sie untereinander homogen sein müssen. Ob diese Annahme zutrifft, kann mit Hilfe des Bartlett-Tests geprüft werden. Bei allen Versuchsreihen wurde daher auch noch der Bartlett-Test durchgeführt. Es sei jedoch bemerkt, dass es sich hier mehr um eine Plausibilitäts-Betrachtung handelt als um einen statistischen Test zur Prüfung der Richtigkeit des Modells.

Es sei noch bemerkt, dass wir die Auswertung der Ergebnisse für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel getrennt vornahmen, da die Erfahrung gezeigt hat, dass sich die beiden Quaddel-Typen in unterschiedlicher Weise verhalten. Lediglich bei 2 Teilversuchsreihen waren wir gezwungen, durch Schätzung der Versuchs-Variabilität das Verhalten der beiden Quaddel-Typen zusammen zu analysieren. Es ergab sich aus dem Umstand, dass an den Versuchstieren, die für diese Versuchszeiten herangezogen wurden, lediglich noch der unbeeinflusste Wert des Spreading-Tests bestimmt worden war. Es handelt sich hierbei um den Zeitpunkt 45 Minuten nach Absetzen der Injektion und zwar sowohl bei den Normaltieren als auch bei den adrenaletomierten Tieren. Die Folge eines solchen Vorgehens ist, dass die Versuchs-Variabilität für diese Versuchsreihen überschätzt wird, wodurch andererseits eine echte Veränderung in der Hyaluronidase-Aktivität sich als statistisch nicht gesichert erweisen kann.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung.

Das Ergebnis der durchgeführten Varianz-Analysen haben wir in den Tabellen 9-12 für die Normaltiere und in den Tabellen 13-16 für die adrenaletomierten Tiere dargestellt. Es bedeutet in den Schemata der Varianz-Analyse

- n : die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- F_{emp} : der Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der Versuchs-Variabilität (Rest-Varianz);
- p : die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten F_{emp} in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Am Fusse jeder Varianz-Analyse ist das Ergebnis des Bartlett-Tests angegeben, den wir zur Prüfung der Übereinstimmung zwischen dem gewählten Modell und dem realen Sachverhalt durchführten. Es bedeutet hierin n die Zahl der Freiheitsgrade der Chi-Quadrat-Verteilung, welcher die Prüfgrösse χ^2_{emp} genügt, wenn die Hypothese zutrifft, dass die verglichenen Varianzen s_t^2 untereinander homogen seien.

Die Mittelwerte $\bar{x}(t)$ der zu jedem Zeitpunkt t einer Versuchsreihe beobachteten Werte, die empirischen Varianzen s_t^2 dieser Werte und die Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$ finden sich in den Tabellen 17 - 20 für die Normaltiere bzw. 21-24 für die adrenaletomierten Tiere. In diesen Tabellen ist ausserdem das Ergebnis des Duncan-Tests für jeden Zeitpunkt in der Weise wiedergegeben, dass angegeben wurde, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden kann, dass die betreffende Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ gesichert von Null verschieden ist. Allerdings wurde diese Irrtumswahrscheinlichkeit nur dann angegeben, wenn sie nicht grösser als 5% ist, da nur in diesem Falle von einer statistischen Sicherung gesprochen werden kann. Schliesslich enthalten diese Tabellen auch noch die in üblicher Weise berechneten prozentualen Hemmungen für jeden Zeitpunkt des Versuches. Ausserdem sind die Mittelwertsdifferenzen für die einzelnen Quaddel-Typen in Abbildung 1 und 2 graphisch dargestellt.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung.

Bei keiner Versuchsreihe besitzt die Prüfgrösse χ^2_{emp} des Bartlett-Tests in der zugehörigen Prüf-Verteilung eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die kleiner als 5% ist. Dies bedeutet, dass der Test bei keiner Versuchsreihe einen Anlass dafür bietet, die Hypothese zu verwerfen, die untereinander verglichenen Varianzen s_t^2 seien untereinander nicht homogen. Es kann daher behauptet werden, dass zumindest in dieser Hinsicht das statistische Modell den realen Sachverhalt angemessen wiedergibt.

In den Varianz-Analysen, die ausschliesslich der Untersuchung des Verhaltens der reinen Farbstoff-Quaddel dienen, besitzt der Varianz-Quotient F_{emp} , der zur Varianz-Komponente zwischen den Zeiten gehört, nur bei den Normaltieren in der Versuchsreihe die zu den Zeitpunkten 80 Minuten und 120 Minuten nach Beginn der Injektion gehören eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die kleiner als 5% ist. Nur bei dieser Versuchsreihe liegt ein statistischer Hinweis dafür vor, dass zu einem ihrer Zeitpunkte eine gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel eingetreten ist.

In sämtlichen Varianz-Analysen, die sich ausschliesslich mit dem Verhalten der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel beschäftigen, besitzt der Varianz-Quotient F_{emp} , der zur Varianz-Komponente zwischen den Zeiten gehört in der zugehörigen F -Prüf-Verteilung eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die kleiner als 1% in den meisten Fällen sogar kleiner als 0,1% ist. Es kann daher als statistisch hoch gesichert gelten, dass in allen zugehörigen Versuchsreihen eine Änderung in der

Hyaluronidase-Aktivität eingetreten ist.

Die beiden Varianz-Analysen, in denen das simultane Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddel und der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel geprüft wurde, dienten lediglich der Schätzung der Versuchs-Variabilität d.h. der Rest-Varianz. Den beiden anderen Varianz-Komponenten, insbesondere der Varianz zwischen den Zeiten, kommt in diesem Falle keine Bedeutung zu, da sie wesentlich durch den Unterschied im Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddel und der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel bedingt ist. Hier muss ausschliesslich mit Hilfe des Duncan-Tests entschieden werden, ob eine Veränderung in der Hyaluronidase-Aktivität bzw. in der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff-Quaddel innerhalb der betreffenden Versuchsreihen vorliegt.

Aus dem Ergebnis des Duncan-Testes ergibt sich, dass zu allen Zeitpunkten des Gesamt-Versuches eine gesicherte Veränderung der Hyaluronidase-Aktivität vorliegt, wobei es sich um eine Hemmung dieser Aktivität handelt, wie aus dem Vorzeichen der Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ hervorgeht. Für die Zeitpunkte 45 Minuten nach Absetzen der Injektion bei den Normaltieren und 45 Minuten nach Beginn der Injektion bei den adrenaletomierten Tieren handelt es sich hierbei um eine schwache statistische Sicherung (Irrtumswahrscheinlichkeit höchstens 5%), für alle anderen Zeitpunkte liegt eine hohe statistische Sicherung vor (Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 1%).

Abschliessend seien noch kurz einige Bemerkungen zur Versuchs-Variabilität gemacht. Wie bereits in dem Abschnitt über die Methodik bemerkt wurde, wird die Versuchs-Variabilität mit Hilfe der Varianz-Komponente der Rest-Varianz in den Varianz-Analysen geschätzt. (Die nachstehenden Erörterungen beziehen sich nur auf diejenigen Varianz-Analysen, bei denen das Verhalten jeweils nur eines Quaddel-Types untersucht wurde.) Vergleicht man die Rest-Varianzen der verschiedenen Versuchsreihen ineinander, so zeigt sich, dass sowohl bei der Farbstoff-Quaddel als auch bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel diese Rest-Varianzen untereinander homogen sind. Die Versuchs-Variabilität hängt also nicht von der jeweiligen Teil-Versuchsreihe ab, insbesondere also auch nicht von den jeweiligen Versuchstieren. Fasst man die Einzel-Schätzungen zu einer Gesamt-Schätzung zusammen, so ergibt sich für die Versuchs-Variabilität der reinen Farbstoff-Quaddel bei den Normaltieren ein Wert $s^2 = 32,6$, bei den adrenaletomierten Tieren ein Wert $s^2 = 49,9$. Die entsprechenden Grössen für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel sind $s^2 = 35,6$ bei den Normaltieren, $s^2 = 12,4$ bei den adrenaletomierten Tieren. Es hat den Anschein, als ob bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel die Versuchs-Variabilität bei den adrenaletomierten Tieren kleiner sei als bei den Normaltieren, allerdings konnte dies bei einer Prüfung mit Hilfe des Bartlett-Tests nicht statistisch gesichert werden. Es ist nun von Bedeutung für die Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t)$ die 95%-Vertrauensgrenzen anzugeben, die sich aus diesen Schätzungen der Versuchs-Variabilität ergeben. Die Grösse dieser Vertrauens-Grenzen hängt naturgemäss von der Anzahl der Versuchstiere ab, die in einer Teilversuchsreihe enthalten sind. Die Berechnung zeigt, dass sie bei 5 Versuchstieren für die

reine Farbstoff-Quaddel den Wert von $\pm 6,55 \text{ mm}^2$ und bei 4 Versuchstieren den Wert von $\pm 7,33 \text{ mm}^2$ nicht übersteigen. Die entsprechenden Werte für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel sind $\pm 5,55 \text{ mm}^2$ für Versuchsreihen mit 5 Versuchstieren und $\pm 6,21 \text{ mm}^2$ bei Versuchsreihen mit 4 Versuchstieren.

Eine genauere Untersuchung der Versuchs-Variabilität zeigt, dass diese sich bei den beiden Quaddel-Typen nicht wesentlich unterscheidet, ausserdem unterscheiden sie sich auch zwischen den einzelnen Versuchsreihen nicht wesentlich, wie dies bereits oben bemerkt wurde. Es erschien daher gerechtfertigt, aus sämtlichen Schätzungen der Versuchs-Variabilität eine neue Schätzung zu ermitteln, für die sich der Wert $s^2 = 32,68$ ergab. Errechnet man aus dieser Schätzung die Grenzen des 95%-Vertrauensbereiches für die Mittelwertsdifferenzen $\sigma \bar{x}(t)$, so ergeben sich für Mittelwertsdifferenzen, die in Versuchsreihen mit 5 Versuchstieren ermittelt wurden, die Werte $\pm 5,09 \text{ mm}^2$, für Versuchsreihen mit 4 Versuchstieren die Werte $\pm 5,69 \text{ mm}^2$. Bei den angegebenen Stichprobenumfängen ist somit die Methode in der Lage, Veränderungen in der Hyaluronidase-Aktivität zu bestimmen, die sich in einer Veränderung der Fläche des Spreadings um mindestens ca. 11 mm^2 äussert. Wir glauben, dass dies ein sehr gutes Ergebnis für eine so diffizile biologische Messmethode ist. Es sei noch bemerkt, dass die vier angegebenen Grenzen selbstverständlich wesentlich von dem jeweiligen Experimentator abhängen, sie sind auf jeden Fall als eine erreichbare obere Grenze anzusehen.

Histamin-Dauerinjektion

Normaltiere
15' und 45'
nach Beginn

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	963	241	6.51	5.0%
Zwischen Zeiten	2	84	42	1.14	-
Rest - Varianz	8	297	37		
Gesamt - Varianz	14	1.344	96		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0.661; 70\% < p < 80\%$$

TABELLE 9

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.230	307	7.31	1.0%
Zwischen Zeiten	2	3.742	1.871	44.55	0.1%
Rest - Varianz	8	334	42		
Gesamt - Varianz	14	5.306	379		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 2.200; 30\% < p < 50\%$$

TABELLE 9

Histamin - Dauerinjektion

Normaltiere
80' und 120'
nach Beginn

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	223	74	3.08	-
Zwischen Zeiten	2	204	102	4.24	5.0%
Rest - Varianz	6	146	24		
Gesamt - Varianz	11	573	52		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0.367; 80\% < p < 90\%$$

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	514	171	3.73	-
Zwischen Zeiten	2	7.311	3.656	79.48	0.1%
Rest - Varianz	6	275	46		
Gesamt - Varianz	11	8.100	736		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1.737; 30\% < p < 50\%$$

TABELLE 10

Histamin - Dauerinjektion

Normaltiere
45' nach
Absetzen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.610	402	2°21	-
Zwischen Zeiten	3	29.821	9.940	54°61	0°1%
Rest - Varianz	12	2.178	182		
Gesamt - Varianz	19	33.609	1.769		

$$n = 3; \chi^2_{\text{emp.}} = 1.422; 70\% < p < 80\%$$

TABELLE 11

Histamin - Dauerinjektion

Normaltiere
90' und 120'
nach Absetzen

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	60	15	-	-
Zwischen Zeiten	2	230	115	3°38	-
Rest - Varianz	8	274	34		
Gesamt - Varianz	14	564	40		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1.067; 50\% < p < 70\%$$

TABELLE 12

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	4.324	1.081	49'14	0'1%
Zwischen Zeiten	2	1.614	807	36'68	0'1%
Rest - Varianz	8	180	22		
Gesamt - Varianz	14	6.118	437		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0'507; 70\% < p < 80\%$$

TABELLE 12

Histamin - Dauerinjektion

Adrenalektomierte Tiere

15' und 45'

nach Beginn

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	369	92	1'53	-
Zwischen Zeiten	2	119	59	-	-
Rest - Varianz	8	485	60		
Gesamt - Varianz	14	973	69		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 3'363; 10\% < p < 20\%$$

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.071	268	14'10	0'1%
Zwischen Zeiten	2	527	263	13'84	1'0%
Rest - Varianz	8	151	19		
Gesamt - Varianz	14	1.749	125		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1'101; 50\% < p < 70\%$$

TABELLE 13

Histamin - Dauerinjektion

Adrenalektomierte Tiere
80' und 120'
nach Beginn

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	315	105	1'75	-
Zwischen Zeiten	2	476	238	3'97	-
Rest - Varianz	6	360	60		
Gesamt - Varianz	11	1.151	105		

$$n = 2; \chi^2_{emp.} = 0'103; 95\% < p < 98\%$$

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1.412	471	58'87	0'1%
Zwischen Zeiten	2	1.060	530	66'25	0'1%
Rest - Varianz	6	47	8		
Gesamt - Varianz	11	2.519	229		

$$n = 2; \chi^2_{emp.} = 0'063; 95\% < p < 98\%$$

TABELLE 14

Histamin - Dauerinjektion

Adrenalektomierte Tiere
45' nach
Absetzen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	786	196	1'01	-
Zwischen Zeiten	3	21.321	7.107	36'82	0'1%
Rest - Varianz	12	2.314	193		
Gesamt - Varianz	19	24.421	1.285		

$$n = 3; \chi^2_{emp.} = 4'726; 10\% < p < 20\%$$

TABELLE 15

Histamin - Dauerinjektion

Adrenalektomierte Tiere

90' und 120'

nach Absetzen

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.443	361	11'28	1'0%
Zwischen Zeiten	2	40	20	-	-
Rest - Varianz	8	253	32		
Gesamt - Varianz	14	1.736	124		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1'141; 50\% < p < 70\%$$

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	2.011	503	55'89	0'1%
Zwischen Zeiten	2	1.013	506	56'22	0'1%
Rest-Varianz	8	74	9		
Gesamt - Varianz	14	3.098	221		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0'072; 95\% < p < 98\%$$

TABELLE 16

Histamin - Dauerinjektion

Normaltiere

15' und 45'

nach Beginn

	$\bar{x} \text{ (t)}$	s_t^2	$\bar{x} \text{ (t)} - \bar{x} \text{ (0)}$	Hemmung	Sicherung
E	130	119			
H ^v	214	184			
E ^v	124	133	- 6		
H ^{15'}	176	42	- 38	43'7%	1%
E ^{15'}	127	62	- 3		
H ^{45'}	190	164	- 24	27'9%	1%

TABELLE 17

			Normaltiere 80' und 120' nach Beginn		
	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Hemmung	Sicherung
E	135	33			
H ^v	222	78			
E ^v	126	56	- 9		
H ^{80'}	167	153	- 55	60' 8%	1%
E ^{80'}	125	33	0		
H ^{120'}	173	32	- 49	54' 4%	1%

TABELLE 18

Histamin - Dauerinjektion

			Normaltiere 45' nach Absetzen		
	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Hemmung	Sicherung
E	136	129			
H ^v	218	420			
E ^v	128	219	- 8		
H ^{45'}	199	242	- 19	22' 7%	5%

TABELLE 19

			Normaltiere 90' und 120' nach Absetzen		
	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Hemmung	Sicherung
E	122	23			
H ^v	231	517			
E ^v	118	43	- 4		
H ^{90'}	206	251	- 25	21' 8%	1%
E ^{90'}	113	17	- 9		
H ^{120'}	213	358	- 18	15' 7%	1%

TABELLE 20

Histamin - Dauerinjektion

Adrenalektomierte Tiere

15' und 45'

nach Beginn

	$\bar{x} (t)$	s_t^2	$\bar{x} (t) - \bar{x} (0)$	Hemmung	Sicherung
E ^v	142	135			
H ^v	216	104			
E ^v _{15'}	144	30	+ 2		
H ^v _{15'}	202	149	- 14	19' 1%	1%
E ^v _{45'}	137	48	- 5		
H ^v _{45'}	208	52	- 8	11' 7%	5%

TABELLE 21

Adrenalektomierte Tiere

80' und 120'

nach Beginn

	$\bar{x} (t)$	s_t^2	$\bar{x} (t) - \bar{x} (0)$	Hemmung	Sicherung
E ^v	146	64			
H ^v	220	194			
E ^v _{80'}	144	70	- 2		
H ^v _{80'}	198	146	- 22	27' 9%	1%
E ^v _{120'}	132	91	- 14		
H ^v _{120'}	204	147	- 16	20' 4%	1%

TABELLE 22

Histamin - Dauerinjektion

Adrenalektomierte Tiere

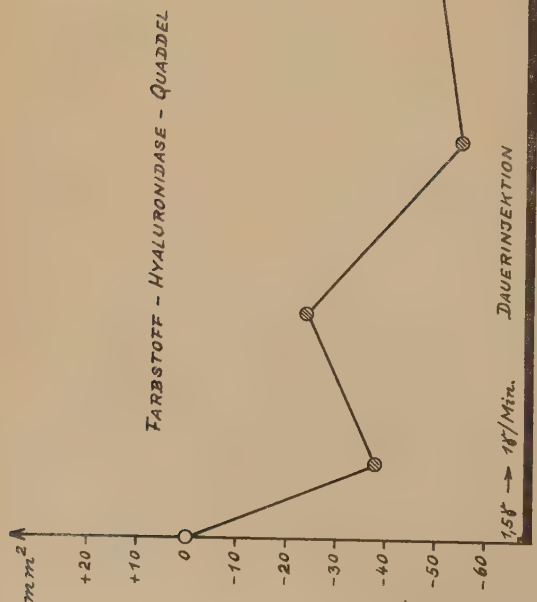
45' nach Beginn

	$\bar{x} (t)$	s_t^2	$\bar{x} (t) - \bar{x} (0)$	Hemmung	Sicherung
E ^v	144	294			
H ^v	221	84			
E ^v _{45'}	140	345	- 4		
H ^v _{45'}	182	51	- 39	48' 8%	1%

TABELLE 23

HISTAMIN - DAUERINJEKTION

NORMALTIERE



● = 1 % IRRTUMSWAHRSCHEINLICHKEIT
 ● = 5 %
 "

FARBSTOFF - QUADDEL

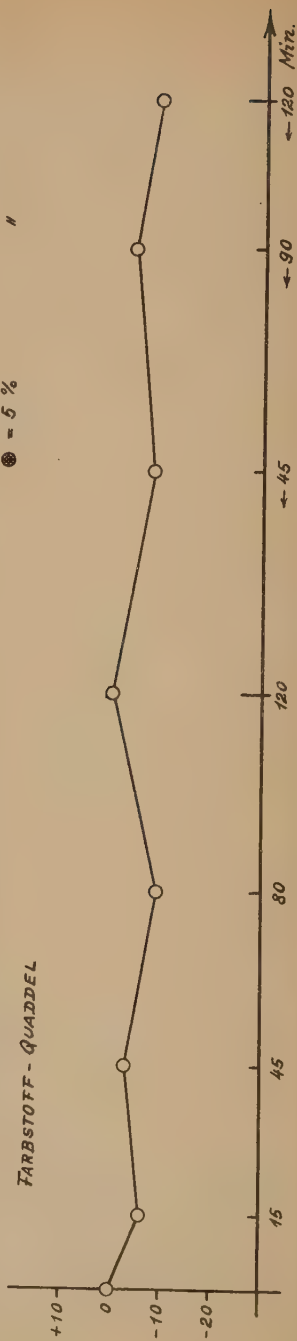
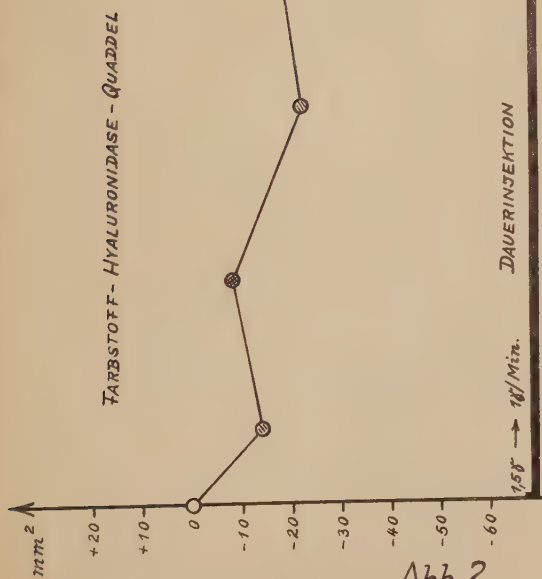


Abb. 1

HISTAMIN - DAUERINJEKTION ADRENALEKTOMIERTE TIERE



DAUERINJEKTION

○ = 1 % IRRTUMSWAHRSCHEINLICHKEIT
 ⊗ = 5 %

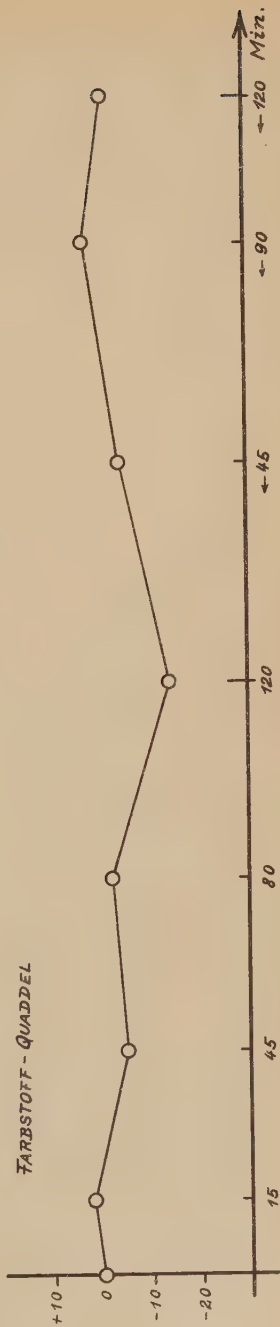


Abb. 2

Adrenalektomierte Tiere
90' und 120'
nach Absetzen

	$\bar{x}$ (2)	$\frac{s^2}{n}$	$\bar{x}$ (2) - $\bar{x}$ (1)	Hemmung	Sicherung
$\bar{x}$	130	70			
$\bar{x}^{90'}$	248	198			
$\bar{x}^{90'}$	183	142	- 6		
$\bar{x}^{90'}$	231	157	- 17	14 %	17
$\bar{x}^{120'}$	129	212	- 1		
$\bar{x}^{120'}$	230	169	- 16	12 %	16

TABELLE 24

DISKUSSION

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, dass bei weissen Ratten eine Histamin-Infusion eine signifikante Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität auslöst, die ihr Maximum noch während der Infusion bei 30 Minuten nach Infusionsbeginn erreicht. Nach Absetzen der Infusion klingt der Effekt rasch wieder ab. Bei Adrenalektomierten Tieren besteht während der Infusion nur eine mäßige Hyaluronidase-Hemmung, die erst bei 45 Minuten nach Absetzen der Infusion vorübergehend einen deutlichen Wert von etwa 50% ergibt. Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu dem bei gleicher Versuchsanordnung von HILCKMANN [2] gefundenen Ergebnissen. Die unter Histamin erhobenen Befunde könnten dafür sprechen, dass Histamin seinerseits zumindest teilweise über die Nebenniere hemmend wirkt. Hierfür spricht auch die von MATHIES [1] erwähnte Tatsache, dass die hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins durch das Adrenalinextrakt-Ergänzungsmittel aufgehoben wird, sowie der Befund von MÜLLER u.a., dass Histamin bei Adrenalektomierten Tieren keine deutliche hyaluronidasehemmende Wirkung entfaltet. Die Stellung des Histamins im Wirkungsablauf von katecholaminergen Substanzen ist damit jedoch noch nicht abgesichert, zumal MATHIES [1] annimmt, dass Histamin und Heparin gemeinsam durch eine Katecholamin-Wirkung aus den Mastzellen freigesetzt werden, wo sie nach WERLE und AMANN [4] sowie SANYAL und WEST [4b] durch SO₂H-Gruppen chemisch miteinander gebunden sind. Zumindest ist nach diesen Versuchen eine Rückwirkung des Histamins auf das Nebennierenmark anzunehmen, die bei Heparin nicht vorliegt.

ZUSAMMENFASSUNG

Mittels einer auf dem Spreading-Effekt beruhenden Hyaluronidase-Quaddel-Methode wurde die hyaluronidasehemmende Wirkung von Histamin-Dauerinfusionen untersucht. Es zeigte sich, dass während der Infusion bei intakten Ratten bereits eine deutliche Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität auftritt, welche bei adrenaletomierten Tieren nicht sichtbar ist. Erst nach Absetzen der Infusion tritt eine mässige Hyaluronidase-Hemmung auf. Es wird diskutiert, welche Rolle dem Histamin im Wirkungsablauf hyaluronidasehemmender Substanzen zukommt. Für den hyaluronidasehemmenden Effekt des Histamins selbst, scheint die Anwesenheit des Nebennierenmarks eine Bedeutung zu besitzen.

LITERATURVERZEICHNIS

- 30

- 26) Maxein, H.: Diss. München 1959
- 27) Ziware, P.: Diss. München in Vorbereitung
- 28) Hiekmann, D.: Diss. München in Vorbereitung
- 29) Glick, D. u. Kaufmann, M.: Prov. Soc. exper. Biol. a. Med. 74 (1950), 279, zit. Pantlitschko, M. u. Kaiser, E. (30)
- 30) Pantlitschko, M. u. Kaiser, E.: Biochem. Zschr. 322 (1951), 137
- 31) Kontis, N.: Diss. München in Vorbereitung
- 32) Ahlheim, G.: Diss. München in Vorbereitung
- 33) Hristoforis, A.: Diss. München in Vorbereitung
- 34) Höland, K.: Diss. München in Vorbereitung
- 35) Staub, H.: Exper. 2 (1946), 29
- 36) Staub, H.: Schweiz. med. Wschr. 76 (1946), 818
- 37) Staub, H.: Helv. Physiol. Acty 4 (1946), 539
- 38) Karg, H.: persönl. Mitteilung
- 39) Bachmann, R.: Handbuch d. mikroskop. Anatomie d. Menschen VI/5 (1954), 222 ff, Springer, Berlin/Göttingen/Heidelb.
- 40) Canalis, P.: Intern. Mschr. Anat. 4 (1887a), 312, zit. Bachmann (39)
- 41) Madinaveitia, J.: Biochemic. J. 32 (1938), 1806
- 42) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz, R. (13)
- 43) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 44) Meder, H.: Diss. München in Vorbereitung
- 45) Werle, E. u. Amann, R.: Naturwissenschaften 42 (1955), 583
- 46) Sanyal, R.K. u. West, G.B.: Nature (London) 1956, 1293

Ich danke Herrn Professor Dr. W. SEITZ für die
Überlassung des Themas, Herrn Dr. H. MATHIES
für die Anregungen und Ratschläge bei der Durchfüh-
rung der Arbeit sowie Herrn Dipl. -Math. K. LIEBRICH
für die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse.

LEBENS LAUF

Als einziges Kind des damaligen technischen Reichsbahn-Obersekretärs Hugo Fuchs und dessen Ehefrau Anny, geborene Wagner, wurde ich am 21. August 1933 in Augsburg geboren.

Durch Versetzung meines Vaters kam ich 1934 nach München.

Nach dem Besuch von vier Klassen Volksschule trat ich im Sommer 1946 in die Oberrealschule ein und legte im Juni 1955 an der Gisela-Oberrealschule in München die Reifeprüfung ab.

Anschließend begann ich im Wintersemester 1955/56 das medizinische Studium an der Ludwig-Maximilian-Universität in München und bestand dort im Frühjahr 1958 die Ärztliche Vorprüfung. Meine klinischen Semester belegte ich ebenfalls alle in München und habe auch hier im Juni 1961 das Staatsexamen mit Erfolg abgelegt.



